

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-7553

(43) 公開日 平成10年(1998) 1月13日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/195	A E D		A 6 1 K 31/195	A E D
A 2 3 L 1/30			A 2 3 L 1/30	A
			1/305	
A 6 1 K 31/355			A 6 1 K 31/355	
31/375	A C L		31/375	A C L
審査請求 未請求 請求項の数26 O L (全 8 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平9-64348

(22) 出願日 平成9年(1997) 3月18日

(31) 優先権主張番号 特願平8-64021

(32) 優先日 平8(1996) 3月21日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 594163936

陶陶酒製造株式会社

東京都台東区根岸2丁目17番1号

(72) 発明者 伊藤 忠雄

鳥取県西伯郡西伯町東町55

(72) 発明者 和田 孝一郎

鳥取県米子市目久美町214-1

(74) 代理人 弁理士 松原 伸之 (外2名)

(54) 【発明の名称】 生体内ラジカル消去剤及び抗潰瘍剤

(57) 【要約】

【課題】工業的大量生産が困難であり、極めて高価なシスタチオンinに対し、ラジカル関与の疾病に、治療薬としてのみならず、予防薬として日常的に摂取できることが望ましい。従って、その投与量を低く抑さえつつも持続性を有し、安価で安全なラジカル消去剤及び抗潰瘍剤若しくはそのような効果を有する食品としてそれらが提供されることが求められていた。

【課題を解決するための手段】マムシ抽出物を主成分とし又はシスタチオンin及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリクアシッド、カルノシン等のうち一種類または、複数種類を添加する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】シスタチオン及びタウリンからなるラジカル消去剤。

【請求項2】シスタチオン及びタウリンを有効成分とするラジカル消去剤。

【請求項3】シスタチオン及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリックアシッド及びカルノシンのうち一種類または、複数種類を混合してなるラジカル消去剤。

【請求項4】シスタチオン及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリックアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ベルオキシダーゼ製剤、生葉のうち一種類または、複数種類が添加されることを特徴とする生体内ラジカル消去剤

【請求項5】シスタチオン及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリックアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ベルオキシダーゼ製剤、生葉のうち一種類または、複数種類が添加され、生体内ラジカル消去作用を有する食品添加物。

【請求項6】シスタチオン及びタウリンからなる抗潰瘍剤。

【請求項7】シスタチオン及びタウリンを有効成分として含有する抗潰瘍剤。

【請求項8】シスタチオン及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリックアシッド及びカルノシンのうち一種類または、複数種類を混合してなる抗潰瘍剤。

【請求項9】シスタチオン及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリックアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ベルオキシダーゼ製剤、生葉のうち一種類または、複数種類が添加されることを特徴とする抗潰瘍剤。

【請求項10】シスタチオン及びタウリンを主成分とし、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、βアミノイソブチリックアシッド、カルノシン、スーパー・オキシジスムターゼ製剤、ビタミンC類縁化合物、ビタミンE類縁化合物、システイン類縁化合物、還元型グルタチオン、ベルオキシダーゼ製剤、生葉のうち一種類または、複数種類が添加され、抗潰瘍作

用を有する食品添加物。

【請求項11】マムシ抽出物からなるラジカル消去剤。

【請求項12】マムシ抽出物を含有するラジカル消去剤。

【請求項13】マムシ抽出物を含有し、ラジカル消去作用を有する食品添加物。

【請求項14】マムシ抽出物を含有し、ラジカル消去作用を有する食品。

【請求項15】マムシ乾燥粉末からなるラジカル消去剤。

【請求項16】マムシ乾燥粉末を含有するラジカル消去剤。

【請求項17】マムシ乾燥粉末を含有し、ラジカル消去作用を有する食品添加物。

【請求項18】マムシ乾燥粉末を含有し、ラジカル消去作用を有する食品。

【請求項19】マムシ抽出物からなる抗潰瘍剤。

【請求項20】マムシ抽出物を含有する抗潰瘍剤。

【請求項21】マムシ抽出物を含有し、抗潰瘍作用を有する食品添加物。

【請求項22】マムシ抽出物を含有し、抗潰瘍作用を有する食品。

【請求項23】マムシ乾燥粉末からなる抗潰瘍剤。

【請求項24】マムシ乾燥粉末を含有する抗潰瘍剤。

【請求項25】マムシ乾燥粉末を含有し、抗潰瘍作用を有する食品添加物。

【請求項26】マムシ乾燥粉末を含有し、抗潰瘍作用を有する食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はマムシ抽出物又はシスタチオン及びタウリンを主成分とし、生体内において有効にラジカル消去作用及び抗潰瘍作用を奏する物質に関する。

【0002】

【従来の技術】ラジカルとは不対電子を1つ又はそれ以上有する活性酸素等をいう。活性酸素は、生体内においてウィルスや癌細胞の除去に重要な役割を果たす一方で、その過剰な生成は膜や組織を攻撃し各種疾患を誘発する。現在ラジカルが関与すると思われる病態、疾患として、動脈硬化、脳梗塞、脳虚血-再灌流障害、消化器系虚血-再灌流障害、潰瘍、悪性腫瘍、化学性発ガン、バラコート中毒、糖尿病、てんかん、老化等が報告されている。

【0003】生体は、生成される第一のラジカルであるスーパーオキシドを消去する特異的な酵素として、SOD（スーパーオキシド・ジスムターゼ）を備える。そのため従来からラジカルの消去剤として、SOD製剤や関連物質（特願平2-75805）の臨床応用が検討されてきた。

【0004】しかし、SOD製剤においては経口投与ができないこと、また静脈投与では生体内半減期が数分であること、アナフィラキシーショックの可能性があること、さらにスーパーオキシドの消去にあたっては過酸化水素の発生が常に伴うという欠点があった。

【0005】そこで、本願発明者らは、生体内物質であるシスタチオニンに着目し、経口投与可能で、アナフィラキシーショック等の心配がなく、かつ他のラジカルを生成することなく作用し、生体内半減期がSODよりも長いという、ラジカル消去剤及び抗潰瘍剤を提案している(特開平8-169822)。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】このようにシスタチオニンは、SOD製剤等の他のラジカル消去剤に比して優れた作用を有するものであるが、効果的にラジカルを消去するためには大量の投与を要する。

【0007】しかし、シスタチオニンは、工業的大量生産が困難であり、極めて高価である。一方、上述のようにラジカルは多様な疾患に関与するため、治療薬としてのみならず、予防薬として日常的に摂取できることが望ましい。

【0008】従って、その投与量を低く抑えつつも持続性を有し安価で安全なラジカル消去剤若しくは抗潰瘍剤又はそのような効果を有する食品が求められていた。

【0009】

【課題を解決するための手段】マムシは、古くより単独で、あるいは他の漢方薬に配剤され補血・滋養・強壯の目的で日常的に広く利用されてきた。

【0010】本願発明者らは、マムシに特異的に含まれるシスタチオニン及びタウリンが共働的にラジカル消去作用及び抗潰瘍作用を奏することに着目し、優れたラジカル消去作用を奏しながらも低い投与量で持続性が高い、シスタチオニン及びタウリンからなるラジカル消去剤、抗潰瘍剤等を提供する。

【0011】さらには、日常的に摂取ができ、安価で安全なマムシ抽出物又はマムシ乾燥粉末からなるラジカル消去剤、食品添加物、食品、抗潰瘍剤等を有する食品を提供するものである。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明に係るシスタチオニン及びタウリン又はマムシ抽出物のラジカル消去作用、抗潰瘍作用について以下の実験例に基づいて詳細に説明する。

【0013】実験1 キサンチン-キサンチンオキシダーゼ(X-XOD)系由来のスーパーオキシドに対する消去作用(ウミホタルルシフェリン誘導体(MCLA)法)

キサンチンオキシダーゼ(X-XOD)にキサンチン(X)を添加すると、キサンチンの濃度に比例してスーパーオキシドが生成される。生成されたスーパーオキシドは、スーパーオキシド反応蛍光試薬であるMC

LA(2-methyl-6[p-methoxyphenyl]-3,7-dihydroimidazo[1,2- $\alpha$ ]pyrazin-3-one hydrate)の化学蛍光強度により、フォトンの量としてスーパーオキシドの量を表すことができる。

【0014】キサンチンオキシダーゼ(10mU/ml)存在下に、キサンチン30 $\mu$ Mを添加してスーパーオキシドを生成させる。この系において、タウリンのみを添加した場合とシスタチオニンとタウリンを混合して添加した場合とを比較し、添加したシスタチオニン、タウリンの量とスーパーオキシドの量の関係を図1に示した。

【0015】図1に示すように、タウリンのみを添加した状態(タウリン1mM~10mM)を基準とすると、タウリンにシスタチオニンを添加した場合のスーパーオキシドの量は全混合比(タウリン+シスタチオニン)において、スーパーオキシド量を減少させた。

【0016】実験2 虚血-再灌流傷害時における胃粘膜組織障害防御作用

虚血-再灌流傷害とは、血流量の低下後、血流の再灌流時に新たに生じる細胞傷害である。そのメカニズムは、血流の途絶から再供給された酸素が活性酸素(ラジカル)となり、細胞膜に存在するリン脂質の過酸化反応を連鎖的に惹起して過酸化脂質を生成する。この過酸化脂質が直接的あるいは間接的に細胞を傷害に至らしめるというものである。ラジカルによる傷害は生体膜すべてに共通し、その傷害が胃粘膜細胞に及ぶ場合にはびらん、潰瘍を生じる。

【0017】本実験では、マムシ抽出物並びにシスタチオニン及びタウリンの混合物について、虚血-再灌流によるラットの胃粘膜傷害防御作用を示すことにより、そのラジカル消去作用及び抗潰瘍作用を明らかにする。

【0018】本実験における動物は、18時間絶食のwistar系雄性ラット(10週令, 280~300g)をペントバルビタール麻酔下で開腹し、腹腔動脈を露出したのち、30分間クリッピングして虚血の状態とした。その後クランプを外して60分間再灌流させた後、脱血致死後胃を摘出し、ラット急性胃粘膜病変モデルを作製した。30分間の虚血状態は、胃の漿膜面にバイオリサーチセンター社製のレーザー血流計(BRL-100)を接着し、血流を測定することによって確認した。クランプ前後の血流の変化を図2に示す。図2に示されるようにクランプをすることにより血流量は低下し、クランプを外すことにより血流量は回復した。よって虚血-再灌流の状態は確実に再現された。このラット急性胃粘膜病変モデルについて、胃粘膜の組織傷害面積の画像解析による測定及び状態観察を行った。

【0019】予め、各ラット群に各一定量のマムシ抽出物、シスタチオニン及びタウリン、シスタチオニン、ス

クラルフアートをそれぞれ経口投与した後に、前記急性胃粘膜病変モデルを作成した。対照薬として胃粘膜保護剤であるスクラルファートについて、さらに発明者らによってすでにラジカル消去作用を有することが明らかにされているシスタチオニンについて、並行して実験を行った。

【0020】図3にはマムシ抽出物の胃粘膜傷害防御作用を示す。

【0021】本願におけるマムシ抽出物は、マムシ

(生)の重量に対し10倍の水で70℃120分間抽出\*10

マムシ (*Agkistrodon blomhoffii*) 中のアミノ酸組成

	$\mu\text{mols/g (wt)}$
シスタチオニン	14.48
タウリン	35.741
セリン	3.99
グルタミン酸	4.86
グルタミン	1.21
グリシン	4.08
アラニン	2.33
$\beta$ -アミノイソバチラ酸	1.45
カルノシン	8.62

\*し、冷却後マムシを濾過にて除く。それを所望の濃度となるまで減圧濃縮して得たものである。本実験においては重量が1/6となるまで濃縮した。一方、マムシ粉末はマムシ全体を凍結乾燥(含水率0.005は%以下)を行い粉末にしたものである。

【0022】マムシ抽出物について、主に含まれるアミノ酸の種類と含有率をアミノ酸分析結果に基づき表1に示す。

【0023】

【表1】

Slfur Amino Acids,8:35-42

マムシ抽出物の投与は、マムシExtract(本実験で使  
したExtract1gはマムシ個体6gに相当)原液、3倍  
希釈液、10倍希釈液をラットに1g/kgとなるよう  
に、麻酔開始10分前に経口で行った。スクラルファ  
ートは100mg/kgを懸濁液として投与した。画像解  
析により測定した胃粘膜組織傷害面積を各試料投与量  
について図3に示した。

【0024】図4にはシスタチオニン単独で腹腔内投与  
した場合、シスタチオニン単独で経口投与した場合、マ  
ムシ抽出物を経口投与した場合の胃粘膜組織傷害面積  
を、シスタチオニン量を基準として示した。本実験で使  
用したマムシ抽出物のシスタチオニン含有量は約19.  
31mg/gであった。

【0025】また図5には、マムシ抽出物を投与した場  
合の胃粘膜組織傷害の抑制効果を示す組織標本の写真  
を示す。

【0026】図3に示すようにマムシ抽出物10倍希釈  
では照査基準に比べ胃粘膜傷害面積の減少は認められ  
なかったが、原液及び3倍希釈液においては有意な効果  
を示した。特に図4で示すように3倍希釈溶液(シスタ  
チオニン量6mg)ではシスタチオニン(6mg)単独を  
経口投与した場合よりの胃粘膜傷害面積を低く押さえる  
という顕著な効果を示している。経口投与で有意な効果  
を奏することは、日常的に摂取するためには有利な効果

といえる。また、図5の通り照査基準である急性胃粘  
膜病変モデルに比してマムシ抽出物を投与したラットの  
胃粘膜組織は出血もほとんどなく、胃粘膜組織傷害防御  
に優れた作用を示した。

【0027】実験3 血漿中の薬理動態

マムシ抽出物に含まれるシスタチオニンの生体内半減期  
と、シスタチオニン単独で投与した場合の生体内半減期  
を比較した。マムシ抽出物中にはシスタチオニンの他に  
タウリンを特徴的に含むことから、シスタチオニン単  
独、マムシ抽出物並びにシスタチオニン及びタウリン混  
合物において比較した。

【0028】本実験はラットを用いて血漿中のシスタチ  
オニン排泄速度、代謝されるシステインの濃度変化を比  
較した。ここでシステインの代謝濃度を計測したのは、  
シスタチオニンは、生体内においてはシスタチオニナー  
ーリアーゼによってシステインに代謝されるからであ  
る。

【0029】本実験では、雄性wistar系ラットを  
絶食させて用いた。ラットにシスタチオニンのみ100  
mg/kg、シスタチオニン100mg/kg及びタウ  
リン100mg/kgの混合物、マムシ抽出物5.18  
g/kg(含有シスタチオニン量100mg)を各々、  
腹腔内に投与し、投与後15、30、60、120、2  
40及び480分後に採血し、血清を遠心分離(350

30

40

50

0 rpm、20分間)し、該血清0.2 mlに2%スルホサルチル酸0.6 mlを混合し遠心分離(4000 rpm、20分間)し、上清0.4 mlのアミノ酸を835型日立高速アミノ酸分析計により測定した。薬理動態のデータ分析は非線形最小二乗法により行った。

【0030】図6に示すように、シスタチオニン単独投与の生物学的半減期は、 $71.2 \pm 12.5$ 分、マムシ抽出物投与の場合 $4.14 \pm 0.52$ 時間、シスタチオニン及びタウリンの混合物の場合 $4.12 \pm 0.82$ 時間であった。このようにマムシ抽出物並びにシスタチオニン及びタウリン混合物は、長時間生体内に留まり、シスタチオニンから代謝されるシステインも持続的に高濃度を維持する。この効果によって、少量の投与であっても日常的に継続的に投与することで生体内のラジカル消去作用を高く維持し続けることが可能となる。

【0031】本発明に係る生体内ラジカル消去剤及び抗潰瘍剤は、液体又は固体の製剤上の補助成分、例えば賦形剤、結合剤、希釈剤等と混合してなるものであり、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、注射剤など任意の剤形で経口的、非経口的に投与することが可能である。

【0032】一方、ラジカル消去作用を有する食品は、\*

シスタチオニンの急性毒性試験の結果

投与経路 : LD50

経口 :  $10 \text{ mmol/kg}$  ( $2200 \text{ mg/kg}$ ) 以上

腹腔内 :  $10 \text{ mmol/kg}$  ( $1250 \text{ mg/kg}$ ) 以上

マムシ抽出物の急性毒性試験の結果

投与経路 : LD50

経口 :  $2800 \text{ mg/kg}$  以上

腹腔内 :  $1300 \text{ mg/kg}$  以上

本急性毒性試験はDDY系雄マウス(体重35~40グラム)を用いて経口投与及び腹腔内投与について、投与後14日間(112H)の観察を行いLD50 mmol/kg (mg/kg)を求めた。ここでLD50値として記載したが、実際に観察中死亡したマウスは両実験ともに1匹も確認できなかった。

【0036】

【発明の効果】シスタチオニンは、生体内物質であることから毒性、アナフィラキシーショック等の心配がないこと、生体内半減期が長いこと、また経口投与が可能であること、また新たなラジカルを発生しないことから他の任意のラジカル消去剤と組み合わせることができるという優れたラジカル消去剤である。

【0037】本願発明は、シスタチオニンの優れたラジカル消去作用等を奏しながらも、タウリンをはじめ、セリン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、 $\beta$ アミノイソブチリクアシッド、カルノシン等のマムシに含まれるアミノ酸と相乗的に作用し、シスタチオニンよりも持続性に優れたラジカル消去剤、抗潰瘍剤、ラジカル消去及び抗潰瘍作用を有する食品を提供す

\*日常的に摂取するために、粉末、錠剤若しくは液体の形態において、各種食品添加物として利用する他、ふりかけ、麺類、健康茶、菓子類、薬効酒等に配合し、各種食品に関する製品として提供することができる。

【0033】マムシ抽出物の投与量は、年齢、体重、症状等により適宜増減するが経口的には通常、成人(60 kg)でシスタチオニン含有量に換算して1日40 mg~80 mg程度が望ましく、通常約60 mg程度が投与される。日常的に予防として服用する場合には10 mg~50 mg程度でもよい。ここでシスタチオニン量として表したのは、マムシ抽出物はマムシの個体差によってそのシスタチオニン含有量が著しく異なるためである。マムシ抽出物として投与する場合にはそのマムシ抽出物のシスタチオニン含有量及びその摂取態様(マムシ抽出物として、食品として、食品添加物として)に対応して摂取量を設定することが好ましい。

【0034】本発明にかかるラジカル消去剤の有効成分となるシスタチオニン及びマムシ抽出物はほとんど毒性がなくマウスを使用した急性毒性試験の結果は次の通りである。

【0035】

るものである。

【0038】また、その持続性により投与量を低く抑さえ、安価かつ安全であり、薬として又は食品として日常的に摂取できる。

【0039】ラジカルが関与する疾病の数はさらに増加するものと考えられ、その種類は老化等の疾病とはいえない日常的なものにまで及んでいる。本願は、シスタチオニン製剤のみの投与に比して、ラジカルが誘起する傷害を日常的な食生活において予防又は防御できるという有利な効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】シスタチオニン及びタウリン混合物のラジカル消去作用

【図2】虚血-再灌流前後の経時的血流量

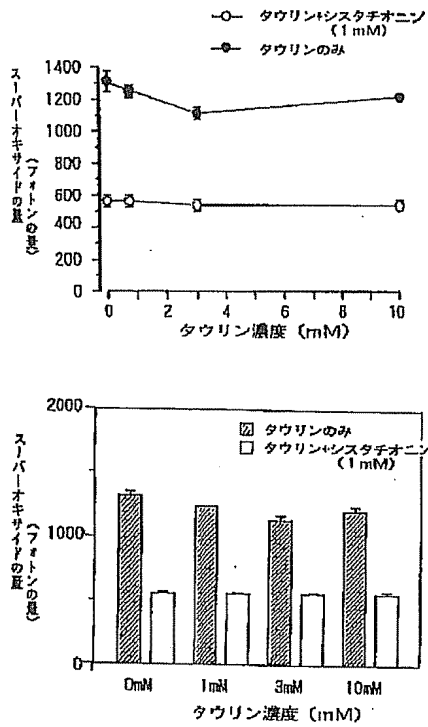
【図3】胃粘膜傷害防御作用の比較

【図4】含有シスタチオニン量で比較した胃粘膜傷害防御作用

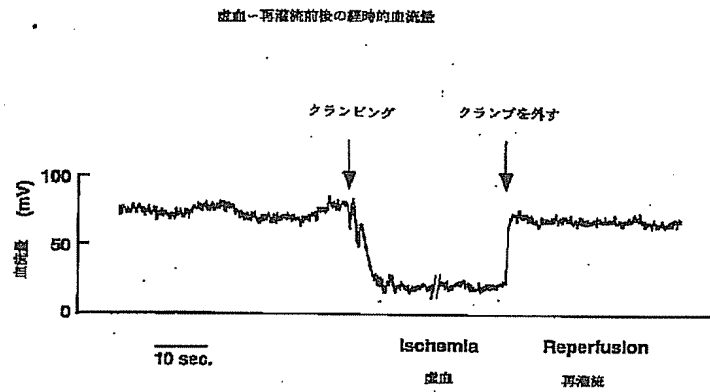
【図5】マムシ抽出物の胃粘膜傷害防御の効果を示す図面に代わる写真

【図6】血漿中の薬理動態

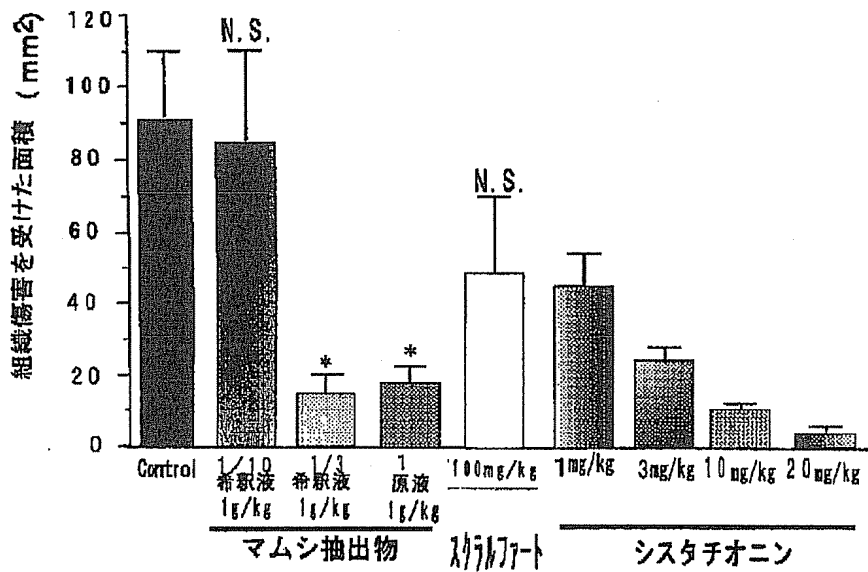
【図1】



【図2】

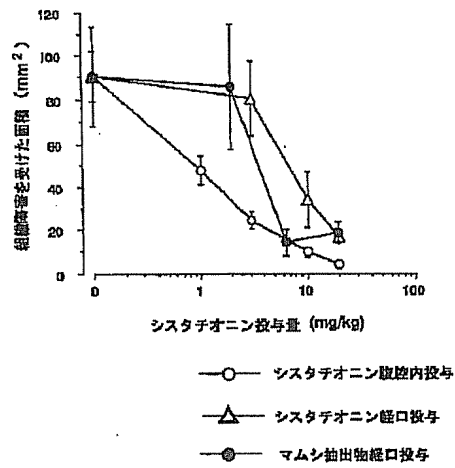


【図3】

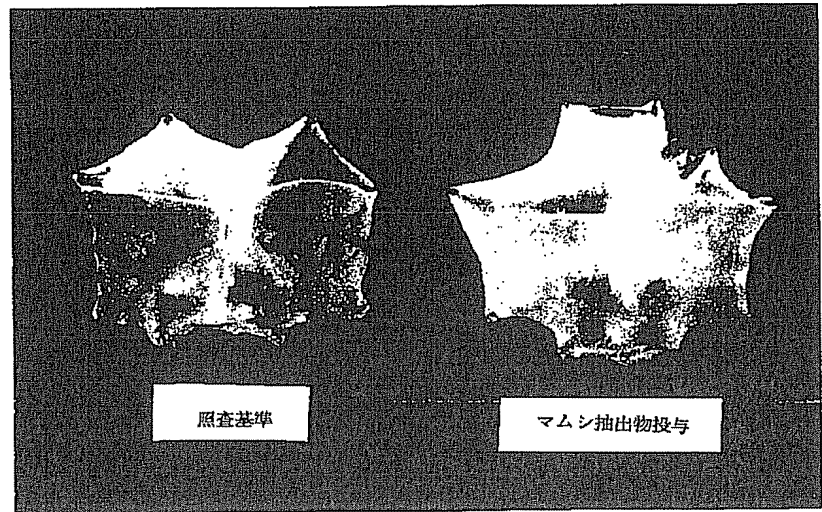


胃粘膜組織傷害防御作用の比較

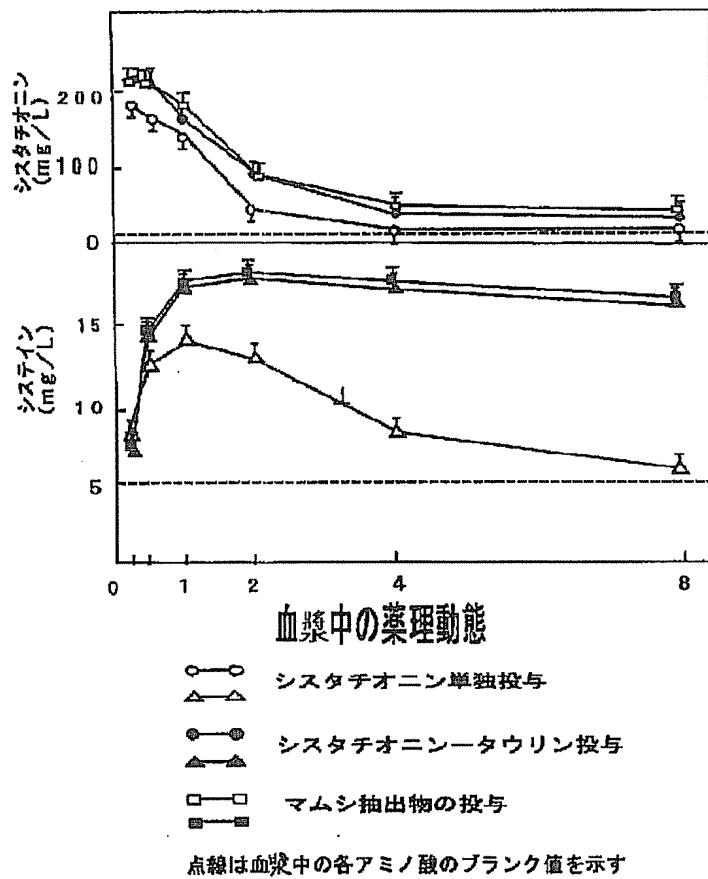
【図4】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>A 6 1 K 31/415  
35/58

識別記号

序内整理番号

F I

A 6 1 K 31/415  
35/58

技術表示箇所



## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **10-007553**

(43)Date of publication of application : **13.01.1998**

---

(51)Int.Cl.

A61K 31/195  
A23L 1/30  
A23L 1/305  
A61K 31/355  
A61K 31/375  
A61K 31/415  
A61K 35/58

---

(21)Application number : **09-064348**

(71)Applicant : **TOUTOUSHIYU SEIZO KK**

(22)Date of filing : **18.03.1997**

(72)Inventor : **ITO TADAO**  
**WADA KOICHIRO**

---

(30)Priority

Priority number : **08 64021** Priority date : **21.03.1996** Priority country : **JP**

---

**(54) IN VIVO RADICAL SCAVENGER AND ANTIULCER AGENT**

**(57)Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To prepare an in vivo scavenger, comprising cystathionine and taurine, having high persistence in a low dose in spite of the manifestation of excellent radical scavenging actions and effective in treating arteriosclerosis, etc.

SOLUTION: This in vivo radical scavenger consists essentially of cystathionine and taurine and is preferably prepared by mixing one or plural kinds of serine, glutamic acid, glutamine, glycine, alanine,  $\beta$ -aminoisobutyric acid and carnosin, etc., therewith. Furthermore, the cystathionine and taurine specifically contained in Agkistrodon blomhoffii are effective and, e.g. an extract thereof obtained by extracting the Agkistrodon blomhoffii with water in an amount of 10 times based on the weight of the Agkistrodon blomhoffii (live) at 70°C for 120min, cooling the resultant mixture, then removing the Agkistrodon blomhoffii by filtration and vacuum concentrating the filtrate until a desired concentration attains is preferably used.

\* NOTICES \*

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

## CLAIMS

---

[Claim(s)]

[Claim 1]A radical eliminating substance which consists of cystathionine and taurine.

[Claim 2]A radical eliminating substance which makes cystathionine and taurine an active principle.

[Claim 3]A radical eliminating substance which uses cystathionine and taurine as the main ingredients, and mixes one kind or two or more kinds in serine, glutamic acid, glutamine, a glycine, an alanine, beta aminoiso butyric acid, and carnosine.

[Claim 4]Use cystathionine and taurine as the main ingredients, and Serine, glutamic acid, Glutamine, a glycine, an alanine, beta aminoiso butyric acid, Carnosine, superoxide dismutase pharmaceutical preparation, a vitamin-C relative compound, a vitamin-E relative compound, a cystein relative compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, a radical eliminating substance in the living body, wherein one kind or two or more kinds in a crude drug are added [Claim 5]Use cystathionine and taurine as the main ingredients, and Serine, glutamic acid, Glutamine, a glycine, an alanine, beta aminoiso butyric acid, A food additive which one kind or two or more kinds in carnosine, superoxide dismutase pharmaceutical preparation, a vitamin-C relative compound, a vitamin-E relative compound, a cystein relative compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, and a crude drug are added, and has a radical elimination operation in the living body.

[Claim 6]Antiulcer drug which consists of cystathionine and taurine.

[Claim 7]Antiulcer drug which contains cystathionine and taurine as an active principle.

[Claim 8]Antiulcer drug which uses cystathionine and taurine as the main ingredients, and mixes one kind or two or more kinds in serine, glutamic acid, glutamine, a glycine, an alanine, beta aminoiso butyric acid, and carnosine.

[Claim 9]Use cystathionine and taurine as the main ingredients, and Serine, glutamic acid, Glutamine, a glycine, an alanine, beta aminoiso butyric acid, Carnosine, superoxide dismutase

pharmaceutical preparation, a vitamin-C relative compound, a vitamin-E relative compound, a cystein relative compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, antiulcer drug, wherein one kind or two or more kinds in a crude drug are added.

[Claim 10]Use cystathionine and taurine as the main ingredients, and Serine, glutamic acid, Glutamine, a glycine, an alanine, beta aminoiso butyric acid, A food additive which one kind or two or more kinds in carnosine, superoxide dismutase pharmaceutical preparation, a vitamin-C relative compound, a vitamin-E relative compound, a cystein relative compound, reduced glutathione, peroxidase pharmaceutical preparation, and a crude drug are added, and has an antiulcer action.

[Claim 11]A radical eliminating substance which consists of a pit viper extract.

[Claim 12]A radical eliminating substance containing a pit viper extract.

[Claim 13]A food additive which contains a pit viper extract and has a radical elimination operation.

[Claim 14]Foodstuffs which contain a pit viper extract and have a radical elimination operation.

[Claim 15]A radical eliminating substance which consists of the end of pit viper dried powder.

[Claim 16]A radical eliminating substance containing the end of pit viper dried powder.

[Claim 17]A food additive which contains the end of pit viper dried powder, and has a radical elimination operation.

[Claim 18]Foodstuffs which contain the end of pit viper dried powder, and have a radical elimination operation.

[Claim 19]Antiulcer drug which consists of a pit viper extract.

[Claim 20]Antiulcer drug containing a pit viper extract.

[Claim 21]A food additive which contains a pit viper extract and has an antiulcer action.

[Claim 22]Foodstuffs which contain a pit viper extract and have an antiulcer action.

[Claim 23]Antiulcer drug which consists of the end of pit viper dried powder.

[Claim 24]Antiulcer drug containing the end of pit viper dried powder.

[Claim 25]A food additive which contains the end of pit viper dried powder, and has an antiulcer action.

[Claim 26]Foodstuffs which contain the end of pit viper dried powder, and have an antiulcer action.

---

[Translation done.]

\* NOTICES \*

JP0 and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

## DETAILED DESCRIPTION

---

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention]This invention uses a pit viper extract or cystathionine, and taurine as the main ingredients, and relates to the substance which does so a radical elimination operation and an antiulcer action effectively in in the living body.

[0002]

[Description of the Prior Art]A radical means the active oxygen etc. which have an unpaired electron one or more. While active oxygen plays a role important for removal of a virus or a cancer cell in in the living body, the superfluous generation attacks a film and an organization and induces various diseases. Arteriosclerosis, cerebral infarction, a brain ischemia-reperfusion obstacle, a digestive system ischemia-reperfusion obstacle, an ulcer, a malignant tumor, chemical oncogenesis, paraquat intoxication, diabetes mellitus, epilepsy, aging, etc. are reported as the symptoms considered that the present radical involves and a disease.

[0003]A living body has SOD (superoxide dismutase) as a specific enzyme which eliminates super oxide which is the first radical generated. Therefore, as a radical elimination agent, SOD pharmaceutical preparation and clinical application of a related substance (Japanese Patent Application No. 2-75805) have been considered from the former.

[0004]However, there were that internal use is impossible in SOD pharmaceutical preparation and that half-life in the living body is several minutes in vein administration, there being possibility of an anaphylactic shock, and a fault that generating of hydrogen peroxide always followed in elimination of super oxide further.

[0005]Then, invention-in-this-application persons can administer orally paying attention to cystathionine which is a substance in the living body, It acted without there being no worries about an anaphylactic shock etc., and generating other radicals, and the radical eliminating substance and the antiulcer drug that half-life in the living body is longer than SOD are

proposed (JP,8-169822,A).

[0006]

[Problem(s) to be Solved by the Invention]Thus, although cystathionine has the operation outstanding as compared with other radical eliminating substances, such as SOD pharmaceutical preparation, in order to eliminate a radical effectively, it requires a lot of administration.

[0007]However, industrial mass production is difficult for cystathionine, and is very expensive. On the other hand, as mentioned above, it is desirable [ a radical ] not only as a remedy that it can take in daily as a preventive medicine in order to participate in various diseases.

[0008]Therefore, although the dose was pressed down low, the foodstuffs which have durability and have a cheap and safe radical eliminating substance, antiulcer drug, or such an effect were called for.

[0009]

[Means for Solving the Problem]In ancient times, a pit viper is independent more, or the \*\* agent of it was carried out to other Chinese orthodox medicine, and it is daily used widely for blood supplement and nourishment, and the strong purpose.

[0010]Invention-in-this-application persons note that cystathionine and taurine which are specifically contained in a pit viper do so a radical elimination operation and an antiulcer action in having two incomes, Though an outstanding radical elimination operation is done so, a radical eliminating substance, antiulcer drug, etc. which consist of cystathionine and taurine with high durability with a low dose are provided.

[0011]Ingestion can be done daily and foodstuffs which have a radical eliminating substance, a food additive, foodstuffs, antiulcer drug, etc. which consist of a cheap and safe pit viper extract or the end of pit viper dried powder are provided.

[0012]

[Embodiment of the Invention]The radical elimination operation of cystathionine and taurine, or a pit viper extract and antiulcer action concerning this invention are explained in detail based on the following examples of an experiment.

[0013]Experiment 1 Elimination operation on super oxide of xanthin xanthine oxidase (X-XOD) system origin (cypridina luciferin derivative (MCLA) method)

If xanthin (X) is added to xanthine oxidase (X-XOD), super oxide will be generated in proportion to the concentration of a xanthin. The generated super oxide, With the chemicals fluorescence intensity of MCLA (2-methyl-6 [p-methoxyphenyl]-3,7-dihydroimidazo[1 and 2- $\alpha$ ] pyrazin-3-one hydrochloride) which is a super oxide reaction fluorescence reagent. The quantity of super oxide can be expressed as a quantity of a photon.

[0014]Xanthin 30microM is added and super oxide is made to generate under xanthine oxidase (10 mU/ml) existence. In this system, the case where mixed the case where only

taurine is added, cystathionine, and taurine and it added was compared, and the relation between the quantity of cystathionine and taurine which were added, and the quantity of super oxide was shown in drawing 1.

[0015]As shown in drawing 1, when it was based on the state (taurine 1mM - 10mM) where only taurine was added, the quantity of super oxide at the time of adding cystathionine to taurine decreased the amount of super oxide in the total mixture ratio (taurine + cystathionine).

[0016]Experiment 2 The gastric-mucosa tissue obstacle defense operation ischemia-reperfusion injury at the time of ischemia-reperfusion injury is a cell damage newly produced at the time of the reperfusion of a blood flow after the fall of a blood stream. The re-supplied oxygen turns into active oxygen (radical) from blocking of a blood flow, and the mechanism causes continuously the hyperoxidation reaction of the phospholipid which exists in a cell membrane, and generates peroxy lipid. It is a thing of this peroxy lipid making a cell result in injury directly or indirectly. The injury by a radical is common in all biomembranes, and when the injury attains to gastric mucosal cells, it produces a sore and an ulcer.

[0017]In this experiment, the radical elimination operation and antiulcer action are clarified by showing a gastric-mucosal-injury defense operation of the rat by ischemia-reperfusion about the mixture of a pit viper extract, cystathionine, and taurine.

[0018]After the animal in this experiment made an incision in the abdomen the wistar system male rat (10 weeks old, 280-300g) of the fast under pentobarbital anesthesia for 18 hours and exposed the celiac artery, clipping of it was carried out for 30 minutes, and it was changed into the state of the ischemia. After removing and carrying out reperfusion of the clamp for 60 minutes after that, the blood removal fatal pyloric stomach was extracted and the rat acute-gastric-mucosal-lesion model was produced. The ischemia state for 30 minutes pasted up the Bio Research Center laser rheometer (BRL-100) on the stomach chorion side, and checked it by measuring a blood flow. Change of the blood flow before and behind a clamp is shown in drawing 2. By clamping, as shown in drawing 2, the blood stream fell and the blood stream was recovered by removing a clamp. Therefore, the state of ischemia-reperfusion was reproduced certainly. About this rat acute-gastric-mucosal-lesion model, the measurement and state observation by image analysis of the organization injury area of gastric mucosa were performed.

[0019]Beforehand, after administering orally the pit viper extract of one fixed quantity each, cystathionine and taurine, cystathionine, and sucralfate to each rat group, respectively, said acute-gastric-mucosal-lesion model was created. It experimented [ sucralfate / which is a gastric-mucosa protecting agent as a control drug ] in parallel about the cystathionine to which clear [ of already having a radical elimination operation by artificers further ] is carried out.

[0020]A gastric-mucosal-injury defense operation of a pit viper extract is shown in drawing 3.

[0021]10 times as much water extracts 70 \*\* of pit viper extracts in this application for 120 minutes to the weight of a pit viper (raw), and they remove an after-cooling pit viper by filtration. It obtains by carrying out vacuum concentration until it becomes the concentration of a request of it. It condensed until weight was set to one sixth in this experiment. On the other hand, pit viper powder freeze-dries (water content 0.005 below %), and powders the whole pit viper.

[0022]About a pit viper extract, the kind and content of amino acid which are mainly contained are shown in Table 1 based on an amino-acid-analysis result.

[0023]

[Table 1]

マムシ (*Agkistrodon blomhoffii*) 中のアミノ酸組成

	$\mu\text{mol s/g (wt)}$
システチオニン	14.48
タウリン	35.741
セリン	3.99
グルタミン酸	4.86
グルタミン	1.21
グリシン	4.08
アラニン	2.33
$\beta$ -アミノイソバチラックアジッド	1.45
カルノシン	8.62

Sifur Amino Acids,8:35-42

Administration of the pit viper extract was performed to anesthesia start 10 quota by taking orally so that it might become a rat with 1 g/kg about a pit viper Extract (Extract1g used in this experiment is equivalent to 6 g of pit viper individuals) undiluted solution, a 3 time diluent, and a 10 time diluent. Sucralfate prescribed 100 mg/kg for the patient as suspension. The gastric-mucosa tissue injury area measured by image analysis was shown in drawing 3 about each sample dose.

[0024]When it injected intraperitoneally to drawing 4 by a cystathionine independent and administered orally to it by a cystathionine independent, the gastric-mucosa tissue injury area at the time of administering a pit viper extract orally was shown in it on the basis of the amount of cystathionine. The cystathionine content of the pit viper extract used in this experiment was about 19.31 mg/g.

[0025]The photograph of the preparation in which the depressor effect of the gastric-mucosa tissue injury at the time of prescribing a pit viper extract for the patient is shown is shown in drawing 5.

[0026]As shown in drawing 3, in 10 times many pit viper extract [ as ] dilution, reduction of gastric-mucosal-injury area was not accepted compared with the check standard, but the significant effect was shown in the undiluted solution and the 3 time diluent. The prominent effect of pressing down low the gastric-mucosal-injury area from the case where a cystathionine (6 mg) independent is administered orally by diluted solution (the amount of cystathionine of 6 mg) 3 times as especially drawing 4 shows is shown. It can be called advantageous effect to do a significant effect so by internal use in order to take in daily. The gastric-mucosa tissue of a rat which prescribed the pit viper extract for the patient as compared with the acute-gastric-mucosal-lesion model which is a check standard as drawing 5 does not almost have bleeding, either, and showed the operation excellent in gastric-mucosa tissue injury defense.

[0027]Experiment 3 The half-life of the cystathionine contained in the pharmacology moving state pit viper extract in plasma in the living body was compared with the half-life in the living body at the time of prescribing a medicine for the patient by a cystathionine independent. Since taurine other than cystathionine was included characteristic in the pit viper extract, it compared in cystathionine independence, a pit viper extract, cystathionine, and a taurine mixture.

[0028]This experiment compared the concentration change of the cystathionine elimination speed in plasma, and the cystein metabolized using the rat. The metabolic turnover concentration of cystein was measured here because cystathionine was metabolized by cystein by cystathionine gamma-lyase in in the living body.

[0029]In this experiment, the male wistar system rat was made to abstain from food, and it used. To a rat only cystathionine 100 mg/kg, cystathionine 100 mg/kg, and a taurine 100mg/kg mixture, A 5.18g (the amount of content cystathionine of 100 mg)/kg pit viper extract respectively, Medicate intraperitoneal and it collects blood in [ 15, 30, 60, 120, and 240 ] administration and 480 minutes, The blood serum was centrifuged (for 3500 rpm and 20 minutes), and 0.6 ml of sulfo salicylic acid was mixed 2% into these 0.2 ml of blood serums, it centrifuged into them (for 4000 rpm and 20 minutes), and the amino acid of 0.4 ml of supernatant liquid was measured with the 835 type Hitachi high-speed amino acid analyzer. Data analysis of the pharmacology moving state was conducted with the nonlinear least square method.

[0030]As shown in drawing 6, in pit viper extract administration, in the case of the mixture of cystathionine and taurine, the biological half-life of cystathionine independent administration was 4.12  $\pm$  0.82 hours for 4.14  $\pm$  0.52 hours for 71.2  $\pm$  12.5 minutes. Thus, a pit viper extract, cystathionine, and a taurine mixture stop in the living body for a long time, and the cystein metabolized from cystathionine also maintains high concentration continuously. This effect enables it to continue maintaining highly a radical elimination operation in the living body by



prescribing a medicine for the patient continuously daily, even if it is a little administration.

[0031]The radical eliminating substance in the living body and antiulcer drug concerning this invention can come to mix with the auxiliary ingredients on the pharmaceutical preparation of a fluid or a solid, for example, an excipient, a binding material, a diluent, etc., and can prescribe a medicine for the patient taking-orally-wise and parenterally with arbitrary dosage forms, such as powder, granulation, a tablet, a capsule, and injections.

[0032]On the other hand, in order to take in daily, in the gestalt of powder, a tablet, or a fluid, it uses as various food additives, and also the foodstuffs which have a radical elimination operation can be blended with fish flour, noodles, healthy tea, confectionary, drug effect alcohol, etc., and can be provided as a product about various foodstuffs.

[0033]Although the dose of a pit viper extract is suitably fluctuated according to age, weight, condition, etc., in taking orally, it converts into cystathionine content by adult (60 kg), and 40 mg - about 80 mg per are desirable, and about 60 mg is usually prescribed for the patient day. When taking as prevention daily, 10 mg - about 50 mg may be sufficient. It expressed as an amount of cystathionine here because a pit viper extract differed in the cystathionine content remarkably according to the individual difference of a pit viper. When prescribing a medicine for the patient as a pit viper extract, it is preferred to set up intake corresponding to the cystathionine content and its ingestion mode (as a pit viper extract, it is considered as foodstuffs and is as a food additive) of the pit viper extract.

[0034]The result of the acute toxicity test which cystathionine and the pit viper extract used as the active principle of the radical eliminating substance concerning this invention do not almost have toxicity, and uses a mouse is as follows.

[0035]

As a result of the acute toxicity test of cystathionine, route-of-administration . : fifty percent lethal dose taking orally : More than 10 mmol/kg (2200 mg/kg) is intraperitoneal. : More than 10 mmol/kg (1250 mg/kg) is a route of administration as a result of the acute toxicity test of a pit viper extract. : fifty percent lethal dose taking orally : 2800 or more mg/kg intraperitoneal . : Using the DDY system male mouse (weight of 35-40 g), about internal use and intraperitoneal injection, the 1300 or more mg/kg book acute toxicity test performed observation for after-administration 14 days (112H), and calculated fifty percent lethal dose mmol/kg (mg/kg). Although indicated as LD50 value here, not both experiments have also checked one mouse which actually died during observation.

[0036]

[Effect of the Invention]Since cystathionine is a substance in the living body, it does not have the worries about toxicity, an anaphylactic shock, etc., Since a long time's and internal use being possible for half-life in the living body and a new radical are not generated, it is the outstanding radical eliminating substance of being combinable with other arbitrary radical

eliminating substances.

[0037] Though the radical elimination operation etc. which were excellent in cystathionine are done so, the invention in this application, Begin taurine and Serine, glutamic acid, glutamine, a glycine, It acts synergistically with the amino acid contained in pit vipers, such as an alanine, beta aminoiso butyric acid, and carnosine, and the foodstuffs which have the radical eliminating substance which excelled cystathionine in durability, antiulcer drug, radical elimination, and an antiulcer action are provided.

[0038] A dose is low pressed down by the durability, and it is cheap and safe and can take in daily as medicine or foodstuffs.

[0039] It was thought that the number of illnesses with which a radical involves increased further, and the kind has attained to even the everyday thing which cannot be said as illnesses, such as aging. This application does so the advantageous effect that the injury which a radical induces can be prevented or defended in everyday eating habits, as compared with administration of only cystathionine pharmaceutical preparation.

---

[Translation done.]

\* NOTICES \*

JP0 and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

## DESCRIPTION OF DRAWINGS

---

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1]A radical elimination operation of cystathionine and a taurine mixture

[Drawing 2]The temporal blood stream before and behind ischemia-reperfusion

[Drawing 3]Comparison of a gastric-mucosal-injury defense operation

[Drawing 4]The gastric-mucosal-injury defense operation compared in the amount of content cystathionine

[Drawing 5]The photograph replaced with the drawing in which the effect of gastric-mucosal-injury defense of a pit viper extract is shown

[Drawing 6]The pharmacology moving state in plasma

---

[Translation done.]

## \* NOTICES \*

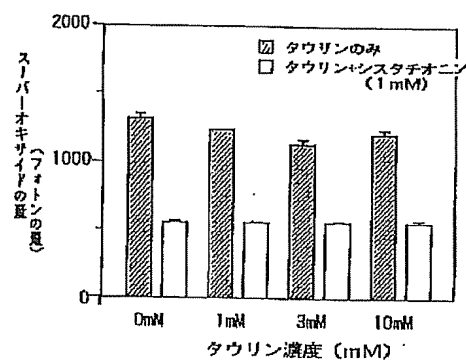
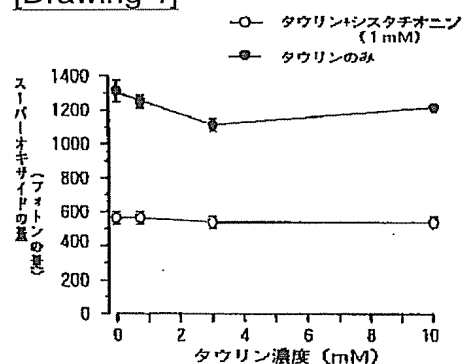
JP0 and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

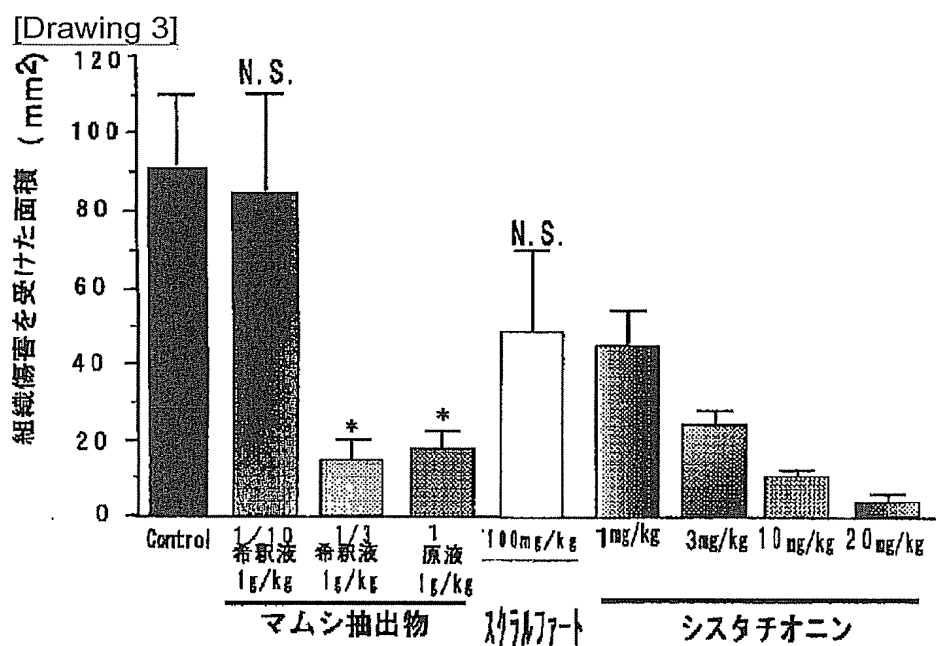
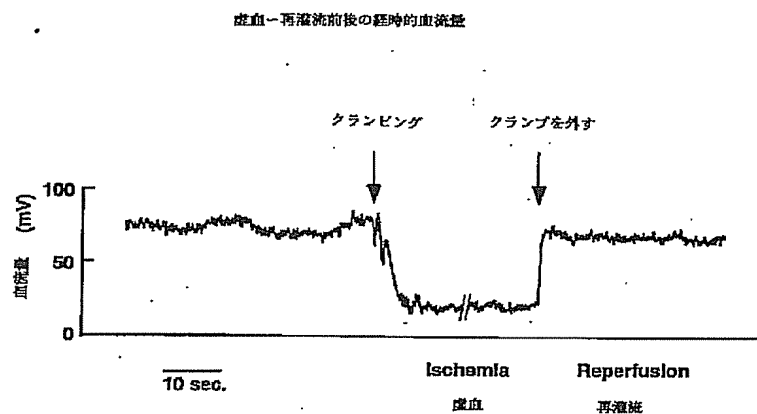
- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

**DRAWINGS**

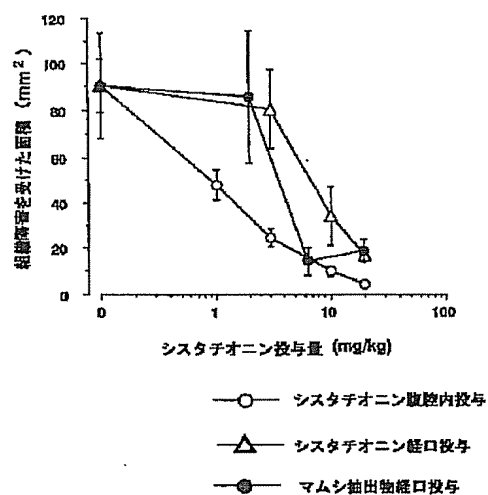
---

[Drawing 1][Drawing 2]

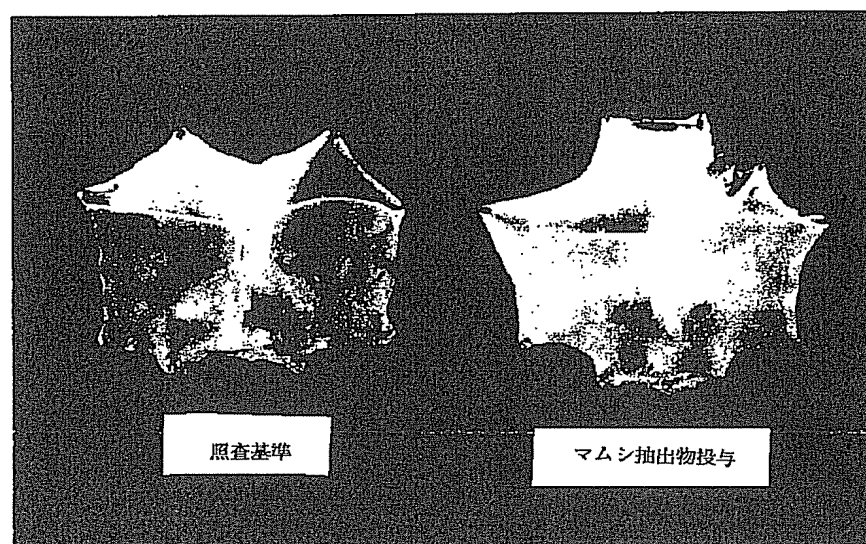


### 胃粘膜組織傷害防御作用の比較

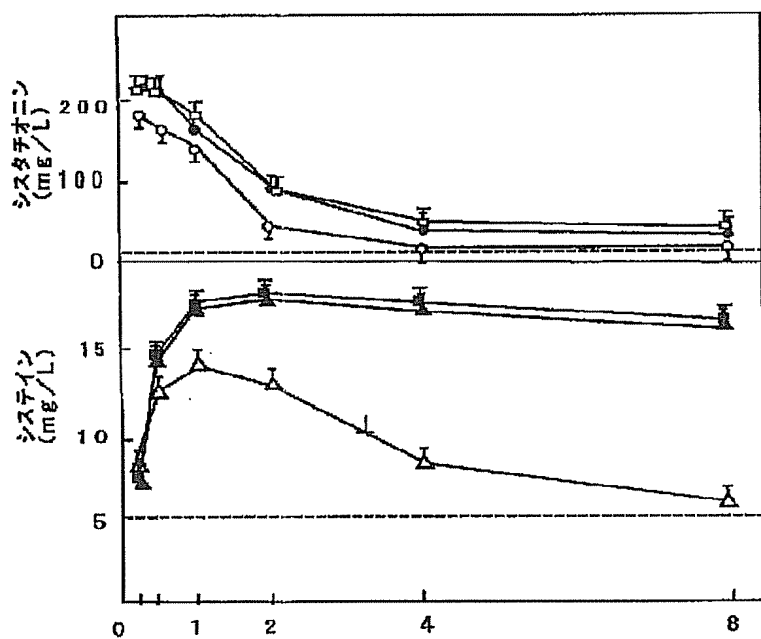
[Drawing 4]



[Drawing 5]



[Drawing 6]



[Translation done.]